生物性農業藥劑研發與應用

羅朝村
行政院農委會農業試驗所植病系

摘要

如何減少化學農藥的使用，並尋得一無毒性或低污染之化學藥劑替代物，已成爲跨世紀各主要開發國家所重視與研發的重點政策。其中生物防治(生物性藥劑使用)策略即爲重點項目之一。生物性農業藥劑主要種類包括生物性殺菌劑、生物性殺蟲劑、生物性殺草劑及生物性殺線蟲劑等。一般而言，生物性農業藥劑的研發，雖因生物種類不同而有差異，但基本研發流程則大同小異。主要研發步驟約可分成三部分，即(一)依防治標的物而篩選出具防病、防害蟲或殺草能力之微生物菌株，(二)大量培養，及(三)傳輸體系如施用方法及範圍及使用時機等之了解。至於產品開發則需進一步達成技術移轉、田間測試、毒理試驗與註冊登記，才能正式將之商品化。

前言

台灣地處熱帶與亞熱帶地區，氣候高溫多濕，作物病害種類因而繁多；以園藝作物而言，其主要病害即包括有立枯絲核菌(*Rhizoctonia* spp)、腐霉菌(*Pythium* spp.)、鐮刀菌(*Fusarium* spp)、疫病菌(*Phytophthora* spp.)、白絹病菌(*Sclerotium rolfsii*)、及菌核病菌(*Sclerotinia* spp)等所引起的土傳性(soil-borne)病害；以及有炭疽病菌(*Collectotrichum* spp)、灰黴病菌(*Botrytis* spp)、葉班病菌(*Alternaria* spp)、白粉病菌、及露菌病菌等所引起的空氣傳播(air-borne)病害。另外害蟲、雜草種類更是繁多。據估計用於防除上述病蟲及雜草之化學農藥單位面積使用量，目前被認爲以台灣爲最高。惟台灣地窄人稠，若不能有效的節制使用化學藥劑與抑制病虫害，其受害度亦將爲世界之最。況且土傳性病害目前尚不易爲化學藥劑所控制。因此不論是站在降低化學藥劑的依賴觀點，或病害綜合防治的策略應用上，如何選擇有效且無毒性的化學藥劑替代品，可說是今日吾人必需努力的目標。

生物防治爲最具潛力之作物病害防治策略之一；亦是永續農業

發展的重要一環。最近美國農部發佈的四大農業政策，更將有利於生物防治的發展與因應解決作物病害問題的需求。如（i） 2001 年溴化甲烷將被禁止使用，如何彌補其在作物病害防治的空缺，則有賴生物防治等策略與方法。(ii) 永續農業的推展被列爲重點政策，而生物防治則符合其標準。(iii) 命令在 75%之農業綜合防治中，需要用生物防治技術來減少化學藥劑的使用。(iv) 有機農業生產產品，需利用無污染，且在自然體系內如生物防治來減少病害損失。雖然目前僅有少數商品化產品，但隨著對拮抗微生物的瞭解與分生科技的引進，無疑的生物防治必將成爲二十一世紀替代化學藥劑的主流。根據資料顯示，世界性植物保護生物製劑市場近年來的成長，若以美元計，1985 年約只有 200 萬，1990 年增至 2500 萬，1995 年即達兩億餘元，至公元 2000 年之市場值，樂觀估計爲 58 億元，其中微生物製劑市場值約爲 21 億元左右。我國在植物保護生物製劑方面相關研究起步並不晚，然而卻少有正式商品化的產品誕生。爲能有效利用台灣蘊藏豐富的生物資源，並將之開發以供使用，如研究發展成爲微生物製劑，以進軍國際市場，並取代大部分化學藥劑在植物保護上的使用，實爲當務吾人應努力的目標。由於生物性農業藥劑的研發流程及其應用，因種類繁多且各有不同，因此爲節省篇幅，特將其去異留同酌以描述其研發流程，以供同好參考。

生物性農業藥劑種類與使用對象

由於生物包含種類甚爲廣泛，因此爲節省篇幅，本文做以微生物較爲常見之製劑爲論述；根據文獻所載及目前已商品代替，約略可區分成（一）微生物殺蟲劑（二）微生物殺菌劑及（三）微生物殺草劑。茲分別略述於下。

一、微生物殺蟲劑：

目前較常被使用者有(1)細菌殺蟲製劑--如蘇力菌(*Bacillus thuringiensis*)－在環境適合時可分泌外毒素(β-exotoxin)，作用對象包括昆蟲及無脊椎動物。當環境不適宜時則產孢並產生蛋白結晶；即爲吾人用來殺蟲的內毒素(α-endotoxin)，主要用 cry 基因控制。根據胺基酸序列及防治對象可將蘇力菌內毒素分成七類；即 cry I 殺蟲對象爲鱗翅目，但分子量爲 81.2Kda 之毒蛋白對鱗翅目及鞘翅目均具活性。Cry II 殺蟲對象爲鱗翅目及雙翅目，cry III 殺蟲對象爲鞘翅目；cry IV 殺蟲對象爲雙翅目；cry V 及 cry VI 殺蟲對象爲線蟲；第七類爲因子（cyt）殺蟲對象爲

隻翅目害蟲；其他則有 Milky spore™(*Bacillus popillae*)產品可殺蟲製劑。(2)真菌殺蟲製劑--如黑殭菌(*Metarhizium anisopliae*)、白殭菌(*Beauveria bassiana*)、綠殭菌(*Nomureae rileye*)和 *Verticillium* sp 主要殺害對象較無專一性；除可殺蟲鱗翅目及鞘翅目外，亦可殺害蚜蟲及飛蝨；另外對線蟲及亦有毒性。(3)其它尚有病毒製劑如核多角病毒、細胞質多角病毒及線蟲製劑類如斯氏線蟲(*Steinernimatidae*)及異小桿線蟲(*Heterorhabditidae*)屬的線蟲，寄主廣泛可用於防治白蟻、蠐螬等地下害蟲；樹蜂、蟲、螟蟲等鑽莖害蟲；甜菜葉蛾、棉鈴蟲等食葉害蟲均有很好的防治效果。

二、微生物殺菌劑：

目前較常用且有商品化者，計有(1)螢光細菌類(fluorescent pseudomonads)可抑制小麥病害及大部分腐霉病菌(*Pythium*_spp)引起的病害、立枯絲核病(*Rhizoctonia solani* 引起)及鐮孢菌(*Fusarium* spp)病害。(2)枯草桿菌(*Bacillus* spp)類，可減少灰黴病(*Botrytis* spp 引起)、白粉病(Powdery mildew)、露菌病(downy mildew)及銹病(Rust diseases)(3)木黴菌(*Trichoderma* spp)根據文獻主要可抑制重要農藝和園藝作物之立枯絲核病、白絹病(*Sclerotium rolfsii* 引起)、菌核病（*Sclerotiorum* spp 引起）、疫病（*Phytophthora* spp 引起）、腐霉病（*Pythium* spp 引起）、灰黴病(Botrytis spp)及鐮孢菌（*Fusarium oxysporum* 引起）等；(4)其他則有放線菌(*Streptomyces* spp.)可防治線蟲、立枯絲核菌及腐霉病引起之病害。

三、微生物殺草劑：

目前以 *Fusarium* spp；*Phytophthora* sp 和 *Collectotrichum* spp 等病原菌來抑制雜草者研究最多；例如 Abbott 公司製造的 Devine™ 即是第一個用 *Phytophthora palmivora* 向美國 EPA 登記用來防治柑桔園中的 milkweed 產品。另外則有 *Xanthomonas* spp.及 *Gliocladium virens* 被用來處理土表而殺害或減少雜草生長之微生物。

微生物製劑的研發流程

一個成功的生物防治，至少需具備下列三個條件：即(一)擁有一優良有效的菌株(superior strain)，(二)可大量生產並擁有良好的架上存活時間(shelf life)，(三)擁有一套有效的傳輸體系(delivery

system)。因此研發任何一種微生物製劑，至少必需能符合上述三大要件，再配合產品的技術移轉以達商品化的最後階段。因此不管何種微生物的開發，其過程大多必需經過(1)確立目標，即以何種微生物爲選擇選象，然後利用選擇性培養基(selective media)或其促進生長之營養物質來篩選所要的對象。當獲得所要菌株後，再測試其對作物生長影嚮，並對害蟲或雜草之感染性或對病原菌的抑制能力評估等，以挑選出最適合的菌株。(2)當獲得菌株後，即必需加以大量培養，以供試驗或做爲未來量化生產的基礎，因此培養基的配方，種類及質材的價格等均可影響未來商品化的競爭力。其中最重要的是在培養（放大培養過程）中，不可減弱該菌株之生物特性。另外回收之產品（或培養出之產品），則必需具有高度活性及在室溫下能夠存活較長的時間。(3)爲利於施用該微生物，產品物必需有利於傳送運輸、施用；因此製成何種製劑，則是必需考慮的重點，其次減少環境的影響(如UV)，配方的選擇亦應加以重視。(4)技術移轉；生物製劑的開發亦屬資本密集的事業，唯有透過產業或相互合作才能儘速開發成商業用商品，因此在商品化之前必需經過技術移轉，毒理測試及註冊證記與田間試驗等。其開發流程簡要如下：

目標選定（如殺蟲、殺菌或殺草）

↓

菌株篩選及方法建立

↓

攻擊對象（害蟲、病原菌或雜草）效能評估及作物影響

↓

放大培養（液態或固態培養）及回收

↓

完成製劑配方

↓

建立施用方法、時機

↓

技術移轉

↓

毒理、環境評估、註冊登記

↓

商品化

可能遭遇之問題

微生物製劑研發過程中，最常遭遇的瓶頸有（一）架上儲活時間問題，一個產品能否商品化，常取決於架上存活時間，通常產品必需能在室溫下至少存活 6-12 個月以上才有商業價值，因此儲活能力經常是優先需要克服的問題。（二）抵抗逆境問題，如紫外線、殺菌劑等影響，因此如何保護微生物菌株或選擇親和性（或抗藥性）菌株，則是應用時應注意的重要因子。（三）環境等因素的影響，生物製劑的應用除需瞭解作物生態，有益微生物生態，病原菌生態（或雜草或害蟲生態等）以及其間的相互影響因子（包含土壤質地，作物別、溫、濕度…等）；才能掌握施用對象、時間、地點等，以達成防治的目標。例如影響蟲生真菌病原致病力的因子，計有（a）病原品系（b）作物種類（c）溫度（d）濕度（e）日照（f）微生物的作用（g）其他農業藥劑的施用影響（h）人爲的耕作方式等。因此爲免於開發成功後產品應用成不穩定的狀況出現，事先的規劃及克服可能遭遇的問題，將是未來產品開發致勝的關鍵。

結語

生物性農藥雖然是最近幾年新興發展之產品，但目前已有多種產品（生物性菌株）陸續在世界各地被開發與問世；如 Agree™、Asir™、Back-off1™、Binab ™、BiofoxC ™ 、BioMal ™、Bio-Fungus ™、Bio-save10 ™、Bio-save11 ™、A506 ™、Blue Circle ™、Boverin、Conquer ™、Deny ™、Devine™ Dipel ™、 DiTera ™、Epic ™、Exhibit ™、Fusaclean ™、Galltrol-A ™、GlioGard ™、Intercept ™、Invade ™、Kodiak ™、Kodiak HB ™、Mamestrin ™、Milky spore、M-peril ™、MVP ™、Mycostop ™、Nogall ™、Novodor ™、Ostrinil ™、Phagus ™、Polygandron ™、PSSOL ™、RootShield 、Roststop ™、SoilGard ™、Sopdopterin ™、Supresivit ™、System3 ™、Bio-Trek 22G™、Bio-Trek T22-HB ™、Scythe ™、Teknar ™、Trichocap ™、Trichodex ™、TM Trichopel ™、Trichoject ™、Trichodowels ™、Trichoseal ™、Trichoderma 2000、TY ™、Victus ™、及 XenTari ™ 等；其可應用範圍則包括抑制病原菌、害蟲或雜草等。台灣目前雖尚無生物性製劑產品上市，但已有多家廠商積極加入產學合作行列，並有量產基礎，相信不久即有產品問世。另外有關生物製劑之應用，往往牽涉到作物生態、製劑微生物生態、防治對象生態及三者之間的作用，

因此相關之基礎試驗有必要事先研究與了解，才能有效防治病原病害、害蟲或雜草等並進減少化學農藥使用。

參考文獻

向明。1995。 生物農藥之開發與產品簡介。生物農藥生產與應用技術訓練講義 :1-15。

陳健忠 、高穗生。1995。蘇力菌在害蟲管理上之應用。永續農業 3：17-20。

羅朝村 1997。木黴菌在作物病害防治上的應用。有益微生物之應用研討會專刊：57-63。

Agosin, E., and Agueilera, J. M. 1998. Industrial production of active propagules of *Trichoderma* for agricultural uses. Pages 205-227. in: *Trichoderma* and *Gliocladium*: Enzymes, Biological Control and Commercial Applications. G.E., Harman, and C.P., Gubicek, eds., Vol. 2., Tayor & Francis Inc., London, UK.

Cook, R. J. 1993. Making greater use of introduced microorganisms for biological control of plant pathogens. Annu. Rev. Phytopathol. 31:53-80.

Elad, Y. 1994. Biological control of grape grey mould by *Trichoderma harzianum*. Crop Protection 13:35-38.

Engelkes, C. A., nuclo, R. L., and Fravel, D. R. 1997. Effect of carbon, nitrogen, and C:N ration on growth, sporulation, and biocontrol efficacy of *Talarmyces flavus*. Phytopathology 87:500-505.

Fravel, D. R., Lewis, J. A., and Chittams, J. L. 1995. Alginate pill formulations of *Talarmyces flavus* with organic carries for biological control of *Verticillium dahliae*. Phytopathology 85:165-168.

Harman, G.E., and Gubicek, C. P. 1998. *Trichoderma* and *Gliocladium*: Enzymes, Biological Control and Commercial Applications. Tayor & Francis Inc., London, UK.

Hjeljord, L., and Tronsmo, A. 1998. *Trichoderma* and *Gliocladium* in biological control: an overview. Pages 131-152 . in: *Trichoderma* and *Gliocladium*: Enzymes, Biological Control and Commercial Applications. G.E., Harman, and C.P., Gubicek, eds., Vol. 2., Tayor & Francis Inc., London, UK.

Jin, X., Hayes, C. K., and Harman, G. E. 1991. Principles in the development of biological control systems employing *Trichoderma* species against soil-borne plant pathogenic fungi. Pages 174-19. in: Frontiers in Industrial Mycology. G. C., Leatham. ed., Chapma and Hall, Inc., Lodon.

Lewis, J. A. , Fravel, D. R., Lumsden, R. D., and Shasha, B. S. 1995. Application of biocontrol fungi in granular formulations of pregelatinized sarch-flour to control damping-off diseases caused by *Rhizoctonia solani*. Biological control 5:397-404

Lo, C. T., Nelson, E. B., and Harman, G. E. 1996. Biological control of turfgrass diseases with a rhizosphere competent strain of *Trichoderma harzianum*. Plant Dis. 80:736-741.

Papavizas, G.C. 1992. Biological control of selected soilborne plant pathogens with *Gliocladium* and *Trichoderma*. Pages 223-230. in: Biological Control of Plant Diseases: Progress and Challenges for the Future. .C. Tjamos, G. C. Papavizas, and R. J. Cook, eds., Plenum Press, New York.

Whipps, J. M. 1998. Microbial interactions as basis for biological control of fungi diseases. 7th international Congress of Plant Pathology, invited papers abstract Vol. 1:2.10.1S. BSPP., Edinburgh, Scotland.